Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Philipps-Universität Marburg

IN VITRO-UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DES pH-WERTES IN ZAHN-PLAQUES DURCH HARNSTOFF ALS SCHOKOLADENZUSATZ

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

RAINER HOLSTEIN
aus Bebra

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Philipps-Universität Marburg

IN VITRO-UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DES pH-WERTES IN ZAHN-PLAQUES DURCH HARNSTOFF ALS SCHOKOLADENZUSATZ

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

RAINER HOLSTEIN

aus Bebra

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg am 22. September 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. F. Neurath
Referent: Prof. Dr. H.F.M. Schmidt
Correferent: Prof. Dr. G. Ahrens

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	4
1. Zuckerkonsum und Zahnkaries	4
2. Neutralisation der Plaque-Säuren durch Harnstoff	8
3. Bedeutung des Plaque-pH-Wertes und seine Messungen	12
B. Eigene Untersuchungen	14
I. Material und Methode	14
1. Die Meßapparatur	14
2. Die künstlich erzeugte Plaque	16
3. Das verwendete Substrat	17
4. Der Verlauf der in-vitro-Versuche	18
5. Ergänzende Untersuchungen (geschmackliche Überprüfung)	20
II. Untersuchungsergebnisse	21
1. Säurebildung und -elimination bei 5-minütiger Substratverweildauer	21
2. Säurebildung und -elimination bei 20-minütiger Substratverweildauer	26
3. Die geschmackliche Beurteilung harnstoffhaltiger Schokolade	30
III. Diskussion	32
C. Zusammenfassung	35
D. Literatur	36

A. Einleitung und Problemstellung

1. Zuckerkonsum und Zahnkaries

Die Zahnkaries befällt ganz besonders die Bevölkerung hochentwickelter Industrieländer. Ihre Hauptursache ist der hohe Zuckerkonsum dieser Länder. So leiden etwa 95 - 99 % der europäischen Bevölkerung an Karies (KÖNIG 1971). Auf die Rolle der Kohlenhydrate bei der Entstehung kariöser Läsionen wurde erstmals von MILLER 1889 aufmerksam gemacht, der erkannte, daß die Zerstörung des Zahnschmelzes bei der Karies durch Säuren hervorgerufen wird, die im Munde durch Gärung aus Kohlenhydraten entstehen.

In der Folgezeit wurden viele Anstrengungen unternommen, um die Ätiologie der Karies weiter aufzuklären. KEYES (1962) postulierte folgende 3 Voraussetzungen, die gleichzeitig vorhanden sein müssen, um kariöse Läsionen am Zahn entstehen zu lassen:

1. ein Wirtsorganismus mit kariesanfälligen Zähnen,
2. Mikroorganismen (Plaque)
3. Substrat für die Mikroorganismen

KÖNIG (1971) fügte als weiteren Faktor die Zeit hinzu. Fehlt eine dieser Voraussetzungen, so entsteht kein kariöser Defekt.
Hierbei sind Häufigkeit und Menge der Substratzufuhr die am stärksten durch Zivilisationseinflüsse bestimmten Faktoren. Zahlreiche Untersuchungen am Menschen, sowie Tier- und Laborexperimente haben gezeigt, daß der Saccharose die Hauptbedeutung bei der Kariesentstehung zukommt. So erklärt sich der Zeitpunkt des rapiden Anstiegs des Kariesbefalls im Ausgang des letzten Jahrhunderts mit dem Einsetzen der industriellen Massenproduktion von Saccharose und zuckerhaltigen Genußmitteln (KÖNIG 1971). Auf die hohe Kariogenität der Saccharose weisen auch epidemiologische Studien hin, die ergaben, daß der verminderte Zuk-

kerkonsum in Europa zur Zeit des Zweiten Weltkrieges von einem starken Rückgang des Kariesbefalls begleitet war (ROOS 1950, TOVERUD 1957, MARTHALER 1967, GUTHERZ 1967).

Aus Erhebungen aus dem Jahre 1969 geht hervor, daß der Verbrauch von Kohlenhydraten in der Bundesrepublik 321 g/d betrug. Davon entfielen 60 % der Kohlenhydratkalorien auf Getreideprodukte und Kartoffeln, 10 % auf Milchprodukte, Obst und Gemüse, die restlichen 30 % entfielen auf industriell erzeugte Kohlenhydrate, in erster Linie Saccharose (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG 1969).
Der letztgenannte Anteil, der vom kariologischen Aspekt betrachtet interessante, vergrößert sich kontinuierlich. So betrug er im Jahre 1953/54 75 g/d und im Jahre 1969/70 87 g/d (CREMER 1971). Andererseits geht der Verbrauch an Stärkeprodukten zurück (KÖNIG 1971). Damit vergrößert sich derjenige Kohlenhydratanteil, der in erster Linie einen schädlichen Einfluß auf die Zahngesundheit ausübt.
Beweise für die unterschiedliche Kariogenität von Stärke und Zucker finden sich in epidemologischen Studien (MARSHALL DAY 1944, RUSSEL 1963), klinische und tierexperimentell gewonnene Hinweise bei BRAMSTEDT 1965, FROSTELL 1965, KÖNIG 1967, SCHMIDT 1970 u.a.
Eindrucksvoll bestätigt sich die wesentlich höhere Kariogenität von Saccharose und anderen Di- und Monosacchariden im Vergleich mit Stärkeprodukten bei Individuen mit hereditärer Fruktose-Intoleranz, die stärkehaltige Nahrungsmittel verzehren können, jedoch saccharosehaltige nicht vertragen. Diese Menschen haben einen ganz geringen Kariesbefall (MARTHALER et al. 1967).

Sehr entscheidend bei der Beurteilung der Kariogenität von Kohlenhydraten ist die Art ihrer Aufnahmegewohnheit (KÖNIG 1971). LUNDQVIST (1952) weist darauf hin, daß nicht der absolute Wert der täglich konsumierten Zuckermenge die entscheidende Größe bei ihrer Beurteilung ist, sondern

die Häufigkeit der Zufuhr. Der kariöse Angriff ist dann am größten, wenn durch häufige Zuckeraufnahme über längere Zeit des Tages ein saures Milieu am Zahn ermöglicht wird (GUSTAFSSON et al. 1954).
Jede Kohlenhydrataufnahme ruft nur einen temporären pH-Abfall hervor (GRAF et al. 1966, NEFF 1967 u.a.), da aufgrund des Speichelflusses in der Mundhöhle das Substrat dauernd aus dieser wieder entfernt wird. Allerdings genügen relativ kleine Zuckermengen, etwa in Form von Bonbons oder ähnlichen Süßigkeiten, um der Plaque über längere Zeit soviel Substrat zur Verfügung zu stellen, daß der pH-Wert im kritischen Bereich gehalten wird, in dem die kariöse Demineralisation stattfindet. LUNDQVIST (1952) hat diese direkt korrelierenden Zusammenhänge zwischen Häufigkeit der Zuckeraufnahme und Kariesbefall in seiner Zuckereliminationsstudie dargestellt.
Die genannten Faktoren treffen im besonderen auf handelsübliche Süßwaren zu. Als Kohlenhydratanteil enthalten sie in der Regel das Disaccharid Saccharose, und sie werden oft zusätzlich, zwischen den Mahlzeiten verzehrt. Der Genuß vieler kleiner "süßer Zwischenmahlzeiten" ist besonders kritisch, da hierdurch über lange Zeiträume des Tages die Plaque ihre azidogene Wirkung entfalten kann; außerdem wird auch die Plaquebildung stark gefördert.
Diese Beobachtungen weisen auf den besonderen Wert der Ernährungslenkung in der Kariesprophylaxe hin und zeigen, daß eine Verminderung der Zufuhr von zuckerhaltigen Nahrungs- und Genußmitteln geboten ist (GUSTAFSSON et al. 1954), dies umso mehr, als Erhebungen von RANKE, AHRENS und RANKE (1974) darauf hindeuten, daß der schädliche Einfluß von Süßigkeiten nicht durch Zahnpflege voll ausgeglichen werden kann.
Dieses Ziel zu erreichen, ist jedoch schwierig, da das Verlangen nach Süßigkeiten als "universale menschliche Schwäche" (NORDSIECK 1972) der Beeinflußbarkeit der Bevölkerung Grenzen setzt (JENKINS 1966 und viele andere).

Da das erstrebenswerte Ziel einer Kariesprophylaxe durch Änderung der Ernährungsgewohnheiten offensichtlich sehr schwer und nur in begrenztem Maße zu erreichen ist, müssen andere Methoden eingesetzt werden. Es stehen hierfür die Möglichkeiten wirksamer Prophylaxe durch Zahnpflege und durch die verschiedenen Anwendungsmethoden von Fluoriden zur Verfügung. Darüber hinaus ist zu prüfen, mit welchen Mitteln und in welchem Ausmaß die Kariogenität von Süßigkeiten unmittelbar vermindert werden kann.
In den letzten Jahren finden deshalb in zunehmendem Maße Zuckeraustauschstoffe Interesse in der Kariesprophylaxe (MÄKINEN 1972, NEWBRUN 1973 u.a.). Dabei handelt es sich meistens um die Austauschstoffe Sorbit, Mannit, Xylit und Lycasin.
GRAEFE (1971) berichtet über technologische Probleme bei der Herstellung von Süßwaren mit diesen Substanzen und gibt verschiedene Rezepturen an, wie bestimmte Süßigkeiten unter Verzicht auf Saccharose zubereitet werden können, darunter auch zwei Rezeptbeispiele für Schokoladen, die sich unter Verwendung von kristallisiertem Sorbit als Austauschstoff wohlschmeckend herstellen lassen (MAIZENA INDUSTRIEPRODUKTE GmbH, 1968).
Tierexperimentell erweisen sich Sorbit, Xylit und Lycasin im Vergleich zu Saccharose als signifikant weniger kariogen (KARLE et al. 1971). In einer klinischen Studie (HASSEL 1971) sank der pH-Wert der Interdentalplaque während und nach dem Lutschen von sorbithaltigen Bonbons nie unter einen pH von 6,3. KARLE (1971) fütterte Ratten mit sorbit- und xylithaltiger Schokolade und fand bei beiden eine wesentlich geringere Kariogenität als bei Fütterung mit saccharosehaltiger Schokolade.
Süßigkeiten als zahnschonend anzupreisen, ist nach MÜHLEMANN (1969) dann gerechtfertigt, "wenn während und nach dem Genuß eines zu prüfenden Bonbons die Zahnplaque nicht unter ein pH von 5,7 angesäuert wird".
Trotz aller Erfolge mit Zuckeraustauschstoffen bestehen hier noch viele offene Fragen, deren Lösung sich in ka-

riesprophylaktischer Hinsicht nach BRAMSTEDT (1971) an folgenden Gesichtspunkten orientieren müßte:

1. gleiche oder annähernd gleiche Süßkraft ohne Bei- oder Nachgeschmack
2. Unbedenklichkeit für den Stoffwechsel
3. keine oder eine erheblich verringerte Kariogenität

2. Neutralisation der Plaque-Säuren durch Harnstoff

Eine Möglichkeit, den aus der Zuckervergärung resultierenden Angriff auf die Zahnhartsubstanzen zu reduzieren, besteht in der Ausnutzung der neutralisierenden Wirkung von Harnstoff in der Mundhöhle. Er kommt natürlicherweise in ihr vor und erreicht im Speichel bis zu 70 % der Blut-Harnstoff-Werte. Seine Konzentration im Speichel bewegt sich zwischen 13 und 27 mg/100 ml Speichel (ALBRECHTSEN et al. 1955). Seine Wirkung beruht auf der Fähigkeit vieler oraler Mikroorganismen, Harnstoff hydrolytisch spalten zu können; die dabei entstehende Ammoniumkarbonatlösung reagiert durch den Gehalt an Ammoniumhydroxid basisch und führt so zu einer Neutralisation der beim bakteriellen Zuckerabbau entstehenden Gärungssäuren.
Über den Harnstoff liegt in kariesprophylaktischer Sicht eine Reihe von Untersuchungen vor. Zusammenfassend werden sie von H.J. SCHMIDT (1952) und REGOLATI (1971) referiert.

Als erste vermuteten GROVE UND GROVE (1934 und 1935) Zusammenhänge zwischen dem Speichel-Ammoniak und dem Kariesgeschehen, als sie fanden, daß im stimulierten Speichel kariesanfälliger Personen der Ammoniakgehalt niedriger war als bei kariesresistenten Individuen. Verschiedene andere Forscher untersuchten diese Zusammenhänge und kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während KESEL (1948), KESEL und andere (1946, 1947 und 1949) und CARY (1946) die

Beobachtungen von GROVE und GROVE bestätigten, kamen LUDWICK und FOSDICK (1950) sowie JENKINS und WRIGHT (1950 a, b) zu gegenteiligen Ergebnissen und fanden keine Anzeichen dafür, daß ein erhöhter Speichel-Ammoniak-Gehalt eine kariesprotektive Funktion hätte.
Die in dieser Zeit durchgeführten Untersuchungen mit Zahnpasten, die Harnstoff und Ammoniumsalze in verschiedenen Konzentrationen enthielten, führten zu ebenso widersprüchlichen Ergebnissen. Während KESEL und Mitarbeiter (1947, 1948, 1949), HENSCHEL (1946) sowie HENSCHEL und LIEBER (1949, 1952) von einer Kariesreduktion bei Anwendung dieser Pasten berichteten, konnten DAVIES und KING (1951) und HAWES und BIBBY (1953) keine signifikante Karieshemmung nachweisen. KING (1951) beklagt sogar die zunehmende Gingivitis-Anfälligkeit bei Patienten, die Zahnpasten mit Harnstoff benutzen.
Tierexperimente mit Hamstern, die mit Harnstofflösungen behandelt wurden, zeigten als Ergebnis einer Kariesreduktion gegenüber den Tieren, die keine Behandlung erhalten hatten (KEYES 1946). Ebenso fanden CHERNAUZEK und Mitarbeiter (1950) eine beträchtliche Kariesreduktion bei Hamstern, die mit Harnstoffzahnpasta behandelt worden waren. Die gleichen Forscher konnten dieses Ergebnis in einer nachfolgenden Untersuchung jedoch nicht bestätigen (1952).

In anderen frühen Arbeiten wurde der Nachweis erbracht, daß Plaque-Bakterien ureolytische Aktivität besitzen. STEPHAN (1940 und 1943), der in vitro und in vivo beobachtet hatte, daß Harnstoff einen deutlichen pH-Anstieg in der Plaque hervorruft, stellte bei einer großen Probandenzahl fest, daß alle Proben Urease-Aktivität aufwiesen. HINE und O'DONELL (1943) fanden, daß 92,8 % von 405 Speichelproben von 82 Personen ebenfalls ureolytisch aktiv waren. Diese Bakterien wurden von STEPHAN und HEMMENS (1947) als Staphylokokken, Proteus, Sarzinen, Neisserien und Streptokokken identifiziert.

REGOLATI (1971) erklärt in einem Überblick über den Harnstoff in der Kariesprophylaxe die oft gegensätzlichen Ergebnisse der frühen Untersuchungen mit Mängeln in der Durchführung der Experimente, räumt aber ein, daß der Nachweis der ureolytischen Aktivität in der Mundhöhle durch verschiedene Bakterienstämme gelang und, daß als Ergebnis von Harnstoffzugaben zur Plaque die Anhebung des pH-Wertes bewiesen wurde.
In neueren Arbeiten befassen sich FROSTELL und KLEINBERG eingehender mit Problemen des Harnstoff-Metabolismus in der Mundhöhle.
FROSTELL (1959) fand, daß hauptsächlich Mikrokokken für die ureolytische Aktivität verantwortlich sind, daneben zeigten aber auch Staphylokokken Urease-Wirkung (FROSTELL 1962). Das pH-Optimum für die Urease-Aktivität oraler Mikrokokken ermittelte er bei pH 7, während er für Plaque selbst einen breiteren optimalen pH-Bereich fand, der zwischen pH 7 und pH 8 lag (FROSTELL 1960).
Die von Plaque-Material entfaltete Aktivität, die in weiten Grenzen von der Harnstoffkonzentration abhing, betrug 1/10 der ureolytischen Aktivität der oralen Mikrokokken, sie war aber 10 mal größer als die von Zahnstein (FROSTELL 1962).
In einem in vitro-Plaque-System fand FROSTELL (1962), daß in bestimmten Grenzen das aus der Harnstoffspaltung entstehende Alkali die aus der Zuckergärung kommenden Säuren komplett neutralisieren kann. Dies steht im Einklang mit Beobachtungen, daß Plaque eine größere Affinität zu Harnstoff als zu Glukose und Saccharose hat (FROSTELL 1960 und KLEINBERG 1967), daß die Alkaliproduktionsaktivität 3,5 mal größer ist als die Säureproduktion aus Glukose (FROSTELL 1960) und die Harnstoffspaltung in der Plaque 10 mal schneller als die Säureproduktion verläuft (KLEINBERG et al. 1963). KLEINBERG und SILVERMAN (1963) zeigten weiter, daß hohe Harnstoffkonzentrationen die Säurebildung aus

Glukose hemmen, umgekehrt aber die Ureaseaktivität durch Glukose nicht gehemmt wird; FROSTELL (1962) konnte sogar eine gesteigerte Ureaseaktivität bei Glukoseanwesenheit nachweisen.
In einer pH-telemetrischen Arbeit von HIRZEL (1969) variierte die Ureaseaktivität von Proband zu Proband, aber bei allen genügten 4 % Harnstoff um die aus der Glykolyse stammenden Säuren einer 10 %igen Saccharoselösung abzupuffern. Weiter fand er bei Versuchen mit einem Bonbon, das u.a. 10 % Saccharose und 4 % Harnstoff enthielt, daß das Interdental-pH nicht unter einen Wert von 5,6 sank.

Ebenfalls positive Ergebnisse erhielten FROSTELL und ERICKSON (1963) mit einem Bonbon, das 5 % Harnstoffzusatz enthielt. Im Tierversuch erbrachte ein 5 %iger Harnstoffzusatz zu einer kariogenen Diät eine abnehmende Karieshäufigkeit (FROSTELL 1970). SCHMIDT und BALLI (1976) ermittelten bei Ratten signifikante Kariesreduktionen mit Harnstoffzusätzen von 6, 3 und 1 %.
SCHMIDT (1972), der in-vitro die pH-hebende Wirkung von Harnstoff untersuchte, kommt zu dem Schluß, daß diese Wirkung jedoch nur kurz anhält und sich der pH-senkenden Saccharosewirkung überlagert. Die von ihm ermittelten Säureeliminationskurven für Saccharose-Harnstofflösungen zeigten aber schon bei niedrigen Harnstoffkonzentrationen eine deutliche Verkürzung der Säureeinwirkung und einen schnelleren pH-Anstieg.
Auf einen unerwünschten Effekt des Harnstoffs weist BAUMGART (1974) hin, der in vitro beobachtete, daß das Plaquewachstum durch Harnstoff geringfügig beschleunigt wird.

In der vorliegenden Arbeit soll in einer in vitro-Studie das Säurebildungsvermögen von Zahnplaques bei Gabe von Schokolade im Vergleich zu Schokolade mit unterschiedlichen Gewichtsprozenten Harnstoff als Substrat untersucht werden. Dabei geht es im wesentlichen um die Frage, inwie-

weit die Säurebildung in der Zahnplaque durch Harnstoffzusätze abgeschwächt werden kann.

3. Bedeutung des Plaque-pH-Wertes und seine Messungen

Aufgrund des heutigen Wissensstandes von der Ätiologie der Karies kommt den in den Plaques ablaufenden Vorgängen eine zentrale Bedeutung zu. Die Entstehung von kariösen Läsionen ist obligat an das Vorhandensein von Plaque gebunden. Diesen Erkenntnissen Rechnung tragend, hat sich die der Prophylaxe dienende Kariesforschung in zunehmendem Maße den bakteriologischen und biochemischen Vorgängen in den Plaques zugewendet. KLEINBERG (1970) beschreibt die Zahnplaque als ein "strukturiertes Gewebe", das aus Zellen (Bakterien), interzellularem Material und Gewebsflüssigkeit besteht. Nach HIRZEL (1969) ist die Plaque ein weicher, dicht verfilzter, zäh auf Zahnoberflächen, in Fissuren, auf Zahnstein und künstlichen Oberflächen haftender, gelblich-grauer Belag, bestehend aus verschiedensten vitalen und toten Mikroorganismen, eingebettet in eine Polysaccharidprotein-Matrix. Sie ist ein Produkt mikrobiellen Wachstums und daher histologisch strukturiert.

In der neueren kariologischen Forschung beschäftigen sich verschiedene Untersucher mit dem Problem der säurebildenden Aktivität der Plaque.
Im allgemeinen werden dabei pH-Veränderungen in der Plaque und besonders im Bereich der Grenzfläche Plaque/Schmelz bestimmt, die genauere Erkenntnisse über die Intensität des entkalkenden Angriffs auf einen Zahn erlauben.

Als erste unternahmen STEPHAN (1940) sowie STEPHAN und MILLER (1943) solche Untersuchungen, bei denen sie Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration nach Spülungen

mit Glukoselösungen in situ verfolgten. Ähnliche Arbeiten wurden in der Folgezeit von STRALFORS (1950), JENKINS und KLEINBERG (1956) und NEFF (1967) durchgeführt.
GRAF (1969) kritisiert bei diesen in situ-Versuchen folgende 4 Unzulänglichkeiten:

"1. durch das Einführen kleiner pH-Meßelektroden in die Plaque wird deren Struktur gestört, was Veränderungen der Diffusionseigenschaften hervorruft,
2. die natürliche Plaquebespeichelung ist nicht gegeben, weil bei diesen Messungen der Mund offen gehalten werden mußte,
3. die zu lange Experimentalzeit
4. die Unzuverlässigkeit der Antimonelektroden, die auf Redoxpotentiale in der Plaque reagieren."

In neueren Arbeiten (GRAF et al. 1966, GRAF 1969, HIRZEL 1969, HASSEL 1971) konnten durch die Anwendung radiotelemetrischer Methoden in der Mundhöhle erstmals Ergebnisse unter in vivo-Bedingungen gewonnen werden.
Die hierbei erfolgende drahtlose Übertragung von Daten aus der Mundhöhle setzt jedoch einen sehr hohen apparativen Aufwand voraus, ferner stellt sie eine große zeitliche Belastung für die Probanden dar (SCHMIDT 1970). Deshalb basieren die in diesen Arbeiten gewonnenen Ergebnisse auch immer auf sehr kleinen Probandenzahlen; statistische Auswertungen fehlen meist. In vitro-Untersuchungen wurden von KEYES und JORDAN (1966) vorgelegt. In einem automatisch gesteuerten Gerät ließen sie auf extrahierte Zähne verschiedene Medien wirken und untersuchten dabei das Plaqueverhalten.
Eine Apparatur, in der die Verhältnisse und die Dynamik eines Interdentalraumes simuliert werden, wurde von SCHMIDT (1970) angegeben. Mit ihr ist es möglich, in vitro, unter Bedingungen, welche Mundhöhlenverhältnissen ähnlich sind, den pH-Wert an der Innenfläche von Zahnplaques zu messen.

B. Eigene Untersuchungen

I. Material und Methode

1. Die Meßapparatur

Die Durchführung der in vitro-Versuche erfolgte nach einer von SCHMIDT (1970) angegebenen Versuchsanordnung. Dieser "Mundhöhlensimulator" gestattet es, fortlaufend den pH-Wert an der Innenfläche von Zahnplaques zu bestimmen.

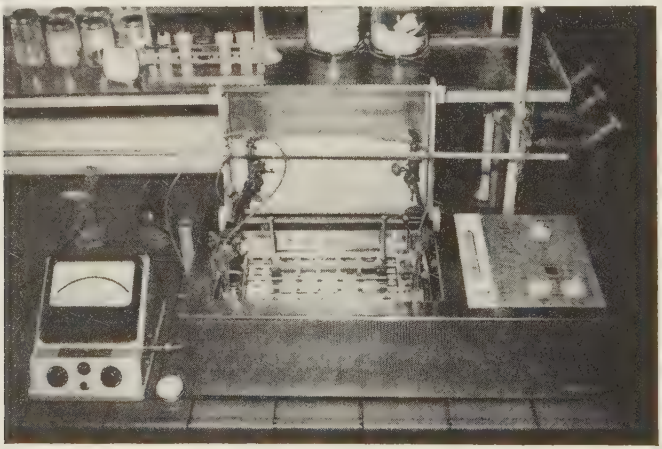

Abb. 1: Mundhöhlensimulator zur Messung des pH-Wertes an der Basisfläche von Zahnplaques mit Einstabmeßketten (n. SCHMIDT)

Die in Abbildung 1 wiedergegebene Apparatur besteht aus einem thermostatisch reguliertem Wasserbad (37 °C) mit einem Schütteleinsatz (Fa. Köttermann).
An einem starren Stativ befestigt tauchen Einstabmeßketten mit einem Ansatzstück in Polyäthylenröhrchen von 8,4 cm Höhe und 2 cm Durchmesser, die in einer Halterung des Schütteleinsatzes (Frequenz: 25/min) stehen. Die Polyäthylenröhrchen, welche die zu testenden Lösungen enthalten, befinden sich mit ca. 1/3 ihrer Höhe im Wasserbad. Die Einstabmeß-

ketten LOT 403-30 (Abb. 2) der Firma Ingold, Frankfurt/ Main, besitzen eine für die Versuchszwecke gut geeignete flache Glasmembran mit einem Durchmesser von ca. 2,2 mm.

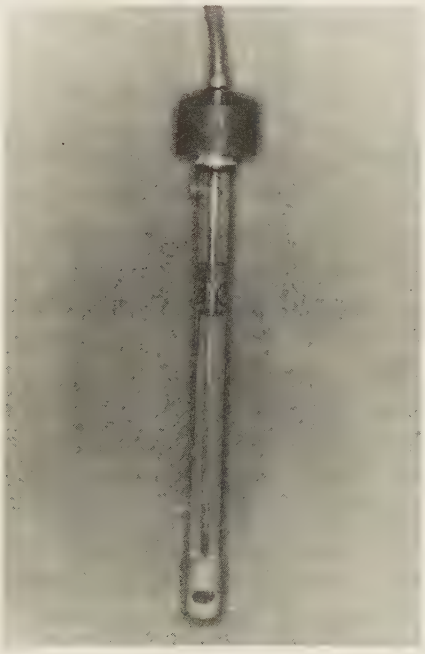

Abb. 2: Einstabmeßkette mit Ansatzstück (n. SCHMIDT)

Gegenüber der Glasmembran ist in geringem Abstand ein Stück eines menschlichen Zahnes befestigt. Glasmembran und konvexe Zahnoberfläche bilden einen sich nach außen hin erweiternden Spaltraum, der in seiner Form und Größe einem Interdentalraum des Seitenzahnbereiches entspricht. Das Zahnstück ist in einem Kunststoffblock gefaßt und mit Hilfe eines Kunststoffschlauches an der Einstabmeßkette befestigt. Zwei kleine neben der Glasmembran aufsitzende Füßchen des Kunststoffblocks und die elastische Spannung des Schlauches sichern den konstanten Abstand zwischen Glasmem-

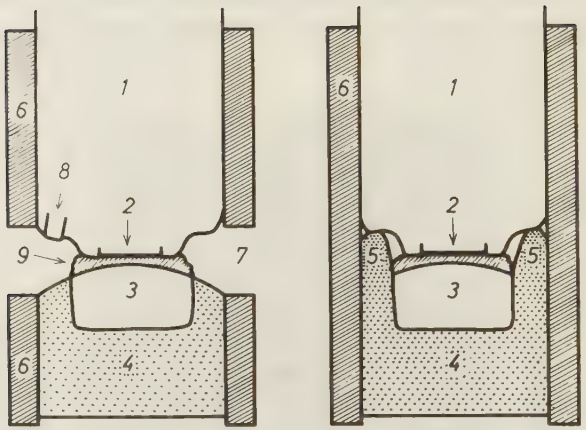

Abb. 3: Schematische Darstellung des "Approximalraumes". Darstellung um 90 Grad in der Längsachse gegeneinander verdreht.
1 Einstabmeßkette, 2 Glasmembran, 3 präp. Zahnstück, 4 Kunststoffblock, 5 Abstandshalter, 6 Kunststoffschlauch, 7 weite Öffnung im Kunststoffschlauch, 8 Diaphragma der Bezugselektrode, 9 Plaque

bran und Zahnstück. In Höhe des "Interdentalraumes" befinden sich zwei weite Öffnungen im Kunststoffschlauch, die einen ungehinderten Zutritt für die die Elektrode umspülenden Medien ermöglichen.
Die laufende pH-Wert-Kontrolle während der Versuche erfolgt mit einem pH-Meter der Firma Knick, an das die Einstabmeßketten angeschlossen sind.

2. Die künstlich erzeugte Plaque

Die Versuche wurden an vier baugleichen Einstabmeßketten mit Ansatzstück durchgeführt. Dabei befand sich in jedem

"Interdentalraum" die Plaque einer anderen Person. Die Plaquegewinnung und das Aufwachsenlassen im Mundhöhlensimulator erfolgten nach einer Methode von SCHMIDT (1970). Als Ausgangsmaterial wurde eine bereits in der Mundhöhle gebildete Plaque benutzt, die nach Entfernung von Speiseresten durch Spray mit einem Zahnreinigungsinstrument von den Zahnoberflächen eines Patienten entnommen und in den "Approximalraum" des Mundhöhlensimulators gebracht wurde. Anschließend stellten wir die Elektrode in Speichel.

Die Plaques zeigten nach ihrem Aufbringen in den "Approximalraum" während der mehrmals täglich durchgeführten Kontrollversuche ein noch sehr unterschiedliches Säurebildungsvermögen und verschieden schnelle Säureelimination. Diese Kontrollversuche, die gleichzeitig der Ernährung der Bakterien dienten, erfolgten mit volumengleichen Gemischen aus frischem Reizspeichel und 10 %iger Saccharoselösung. In dem Substrat stand die Einstabmeßkette für die Dauer von 20 Minuten. Danach erfolgte die Clearance mit reinem Speichel im 5-minütigen Wechsel.
Unter dieser "Fütterung" änderte sich jedoch das Verhalten der Plaques. Nach ca. 5 Tagen zeigte die frisch aufgebrachte Plaque bei Saccharosezufuhr innerhalb eines Zeitraumes von 2 Tagen nun nahezu gleichbleibende pH-Kurven. Auch untereinander waren die an den verschiedenen Einstabmeßketten ermittelten Kurven jetzt ähnlich. Erst nachdem sich das pH-Verhalten stabilisiert hatte, wurden die eigentlichen Versuche unternommen.

3. Das verwendete Substrat

Für die Untersuchungen verwendeten wir eine handelsübliche Vollmilchschokolade (Suchard-Milka), der wir mit Ausnahme der Schokolade für die Kontrollversuche 2 bzw. 4 % Harn-

stoff beimengten. Die Vermischung der Schokolade mit dem Harnstoffzusatz erfolgte durch Erwärmung der Schokolade im Wasserbad und nachfolgendem Einrühren des Harnstoffs. Um eine möglichst gleichmäßige Verteilung des Harnstoffes zu erreichen, zerstampften wir diesen vor seiner Zugabe im Mörser fein.
Auch die Schokolade für die Kontrollversuche, die keinen Harnstoffzusatz enthielt, wurde umgeschmolzen, um etwaige Einflüsse des Umschmelzens auf die Untersuchungsergebnisse mitzuerfassen.
Nach dem Erkalten portionierten wir die Schokolademasse für die Einzelversuche. Das Gewicht einer Einzelportion betrug 8 g; das entspricht ca. 1 1/2 Täfelchen industriell ausgeformter Schokolade.

4. Der Verlauf der in-vitro-Versuche

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Beurteilung der Säurebildung und -elimination bei Schokolade mit und ohne Harnstoffzusätzen an vier baugleichen Einstabmeßketten. Wir verwendeten an jeder Elektrode Plaquematerial einer anderen Person, um mögliche Einflüsse durch eine individuelle Besonderheit einer Plaque geringhalten zu können. Die Versuche wurden von 2 Personen ausgeführt, die für die Untersuchungen jeweils ihren eigenen Speichel benutzten.
Von jedem Substrat ermittelten wir 22 Säureeliminationskurven nach dem gleichen Ablauf. Die 3 Substrate (Schokolade, Schokolade mit 2 % Harnstoffzusatz und Schokolade mit 4 % Harnstoffzusatz) wurden immer in wechselnder Folge an einer Elektrode untersucht, um etwaige Besonderheiten, die sich aus der Reihenfolge der Substratgabe ergeben konnten, möglichst auszuschließen.
Um vergleichbare Resultate zu erzielen, begannen wir jeden Einzelversuch bei einem Ausgangs-pH-Wert von 6,25 in

der zu untersuchenden Plaque.
Das in jedem Versuch getestete Speichelsubstratgemisch erhielten wir folgendermaßen: Der Untersucher zerkaute innerhalb von 30 Sekunden ein ca. 8 g schweres Schokoladen- bzw. Schokoladen-Harnstoffgemisch-Stückchen und entfernte unmittelbar darauf den größten Teil dieses eingespeichelten Substrates aus der Mundhöhle durch einmaliges Schlucken. Nachfolgend sammelten wir über eine Minute hin das in der Mundhöhle verbliebene Substrat mit Speichel in einem Polyäthylenröhrchen durch mehrmaliges Spucken. Diese so gewonnene Speichelsubstratlösung war nur wenig visköser als reiner Speichel. Sie erfüllte damit die Eigenschaft ungehindert die Versuchselektrode umspülen zu können. Die Versuchslösung wurde dann sofort in den Mundhöhlensimulator gegeben.
Wir führten mit den zu testenden Substraten zwei Versuchsreihen durch, die sich im wesentlichen hinsichtlich der Verweildauer der Schokoladen in der Meßapparatur unterschieden.
In der ersten Versuchsreihe verblieb das Substrat 5 Minuten im Mundhöhlensimulator bevor es gegen den vom Untersucher inzwischen neu gesammelten eigenen Speichel ausgetauscht wurde. Dieser Wechsel erfolgte dann jeweils weiter im 5-Minuten-Abstand solange bis das Ausgangs-pH wieder erreicht war.
Da nach dem Sammeln der ersten, schokoladereichen Speichelprobe die Mundhöhle nicht gesäubert wurde, enthielten auch die nachfolgenden Speichelproben in abnehmendem Maße Anteile der Versuchsschokoladen. Die Schokoladenbestandteile konnten somit ähnlich wie in der Mundhöhle nachwirken.
Die pH-Werte lasen wir immer unmittelbar vor dem Austausch der Röhrchen ab.
In der zweiten Testreihe veränderten wir den Versuchsablauf gegenüber der ersten nur im Anfangsstadium. Das nach dem vorhergehend beschriebenen Verfahren gewonnene Speichelsubstratgemisch entfernten wir erst nach 20 Minuten

aus dem Mundhöhlensimulator und tauschten es gegen einen Speichel, der dem beim ersten Wechsel (5-Minutenzeitpunkt) in der anderen Versuchsfolge entsprach. Hierzu mußte der Untersucher 13 1/2 Minuten nachdem er den Versuch begonnen hatte wieder ein Stückchen Schokolade bzw. Schokolade-Harnstoff-Gemisch während 30 Sekunden zerkauen, dann 1 Minute lang den sich bildenden Speichel schlucken und anschließend über 5 Minuten seinen Speichel durch Spukken in einem Polyäthylenröhrchen sammeln.
Dieses Röhrchen wurde dann am 20-Minutenzeitpunkt gegen das erste gewechselt.
Der weitere Versuchsablauf erfolgte wie in der ersten Versuchsreihe im 5-minütigen Wechsel des Speichels bis zum Erreichen des Ausgangs-pH-Wertes. Den pH-Verlauf kontrollierten wir ebenfalls alle 5 Minuten vor dem Austausch der Röhrchen am pH-Meter.
Den von uns gewählten Rhythmus zur Ermittlung der Clearance legten wir auf 5 Minuten fest, weil dieses Zeitintervall aus Gründen einer kontinuierlichen Bestimmung der Säurebildung und -elimination möglichst klein gehalten werden sollte. Andererseits war diese Zeit nötig, damit die Untersucher die Speichelmindestmenge sammeln konnten, die erforderlich war, um den künstlichen "Approximalraum" komplett umspülen zu können.

5. Ergänzende Untersuchungen (geschmackliche Überprüfung)

Zur Überprüfung der geschmacklichen Eigenschaften von harnstoffhaltiger Schokolade führten wir mit zwei Gruppen einen Geschmackstest durch.
Wir verwendeten hierzu die gleichen Schokoladen wie in unseren in-vitro-Untersuchungen. Dazu verpackten wir sie in den 8 g-Portionen in kleine neutrale weiße Tütchen, die wir mit einer Nummer beschrifteten, aus der wir die Schokoladenzusammensetzung ersehen konnten.

Einen Test führten wir mit 22 Marburger Zahnmedizinstudenten durch. Wir bezogen nur solche Studenten in die Untersuchung ein, die angaben, daß sie gern Schokolade verzehrten. Jeder Proband erhielt insgesamt 6 Portionen zur Beurteilung, darunter jeweils zweimal die gleiche Schokolade (Schokolade ohne Zusatz, Schokolade mit 2 % Harnstoffanteil, Schokolade mit 4 % Harnstoffanteil). Die Reihenfolge, in der die verschiedenartig zusammengesetzten Schokoladen probiert wurden, war zufällig.
Die Beurteilung durch die Probanden wurde auf die Möglichkeiten eingegrenzt: "Die Schokolade schmeckt gut. Die Schokolade schmeckt schlecht."
Die zweite Probandengruppe, mit der wir eine Geschmacksuntersuchung durchführten, waren 80 hannoversche Kinder im Grundschulalter. Der Test erfolgte nach den gleichen Kriterien, lediglich die Anzahl der zu beurteilenden Proben wurde auf 3 reduziert, so daß jede Schokolade einmal probiert wurde.

II. Untersuchungsergebnisse

1. Säurebildung und -elimination bei 5-minütiger Substratverweildauer

In Abbildung 4 sind die Mittelwertskurven der Säureelimination bei 5-minütiger Substratverweildauer im "Mundhöhlensimulator" dargestellt.
Die untere Kurve gibt den Verlauf mit Schokolade ohne Harnstoff wieder. Die mittlere und die obere Kurve zeigen den Versuchsverlauf bei Verwendung von Schokolade mit einem Harnstoffanteil von 2 bzw. 4 % als Substrat für die Plaque. Wie aus den Säureeliminationskurven zu ersehen ist, ergibt sich durch die Beimengung von Harnstoff zu Schokolade eine erhebliche Reduzierung des pH-Abfalls, ferner zeigt das Diagramm, daß die Zeitspanne, in der ein

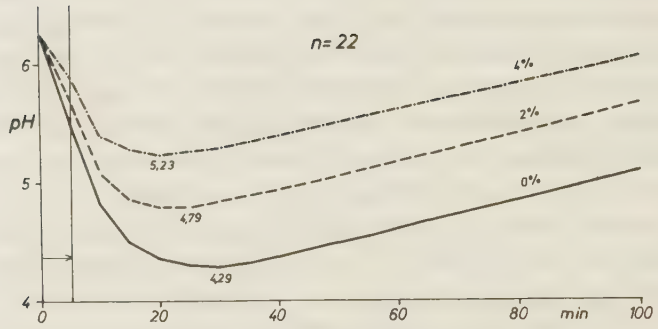

Abb. 4: Einfluß von Schokolade mit 0, 2 und 4 % Harnstoffbeimischungen auf das Plaque-pH. Clearance-Simulation durch Speichelentnahme im 5-Minuten-Rhythmus im Anschluß an Schokoladegenuß. Mittelwertskurven aus 22 Einzelversuchen mit eingetragenen Tiefstwerten. Der Pfeil kennzeichnet die Dauer der Haupteinwirkungszeit des Substrates.

pH-Wert vorliegt, der am Zahn eine kariöse Demineralisation bewirken kann, ganz wesentlich abgekürzt ist.
Die alkalisierende Wirkung des Harnstoffes war bei allen Versuchen deutlich. Die in dieser Arbeit nicht wiedergegebenen Einzelkurven verliefen stets oberhalb der zugehörigen Kontrollkurven mit reiner Schokolade. Auch die Eliminationskurven für Schokolade mit 4 % Harnstoff lagen immer über den Kurven mit 2 % Harnstoffanteil.
Die Signifikanz der Mittelwertsdifferenzen prüften wir in jeweils 7 Kurvenpunkten mit Hilfe des t-Tests. Wir verglichen hierbei die Ergebnisse von 0 % mit 2 %, 2 % mit 4 % und 0 % mit 4 % Harnstoffanteil.
In den Tabellen I - III sind die einzelnen Mittelwerte für die jeweils verglichenen Paare dargestellt. Entsprechend sind in den Abbildungen 5 - 7 die pH-Differenzen der Mittelwertskurven dargestellt.

Für alle Vergleiche erhielten wir hochsignifikante Differenzen.

Tab. I

T	n	$\bar{X}_0$	$\bar{X}_2$	$\bar{d}$	sd	t	P
10	22	4,82	5,09	0,27	0,017	16,34	$\ll$ 0,001
20	22	4,35	4,80	0,45	0,008	55,76	$\ll$ 0,001
30	22	4,29	4,83	0,54	0,010	52,43	$\ll$ 0001
40	22	4,37	4,94	0,57	0,019	30,59	$\ll$ 0,001
60	22	4,61	5,16	0,55	0,034	15,98	$\ll$ 0,001
80	22	4,84	5,40	0,56	0,039	14,34	$\ll$ 0,001
100	22	5,08	5,65	0,57	0,041	13,85	$\ll$ 0,001

Tab. II

T	n	$\bar{X}_2$	$\bar{X}_4$	$\bar{d}$	sd	t	P
10	22	5,09	5,40	0,31	0,028	11,04	$\ll$ 0,001
20	22	4,80	5,23	0,43	0,016	27,27	$\ll$ 0,001
30	22	4,83	5,29	0,46	0,024	19,07	$\ll$ 0,001
40	22	4,94	5,39	0,45	0,030	15,25	$\ll$ 0,001
60	22	5,16	5,60	0,44	0,031	14,39	$\ll$ 0,001
80	22	5,40	5,81	0,41	0,029	14,03	$\ll$ 0,001
100	22	5,65	6,03	0,38	0,028	13,90	$\ll$ 0,001

Tab. III

T	n	$\bar{X}_0$	$\bar{X}_4$	$\bar{d}$	sd	t	P
10	22	4,82	5,40	0,58	0,039	14,75	$\ll$ 0,001
20	22	4,35	5,23	0,88	0,028	31,61	$\ll$ 0,001
30	22	4,29	5,29	1,00	0,028	35,60	$\ll$ 0,001
40	22	4,37	5,39	1,02	0,030	34,03	$\ll$ 0,001
60	22	4,61	5,60	0,99	0,030	33,15	$\ll$ 0,001
80	22	4,84	5,81	0,97	0,029	33,99	$\ll$ 0,001
100	22	5,08	6,03	0,95	0,034	27,56	$\ll$ 0,001

Tab. I - III: Statistische Werte der Paarvergleiche bei Substrateinwirkung von 5 Minuten
T = Zeitpunkt der pH-Messung; n = Anzahl der Einzelversuche; $\bar{X}_0$, $\bar{X}_2$, $\bar{X}_4$ = pH-Mittelwerte am Meßpunkt T der Substrate Schokolade ($\bar{X}_0$), Schokolade mit 2 % Harnstoff ($\bar{X}_2$), Schokolade mit 4 % Harnstoff ($\bar{X}_4$); $\bar{d}$ = Mittelwerte der pH-Differenzen; sd = Standardabweichung der Mittelwerte; P = Irrtumswahrscheinlichkeit

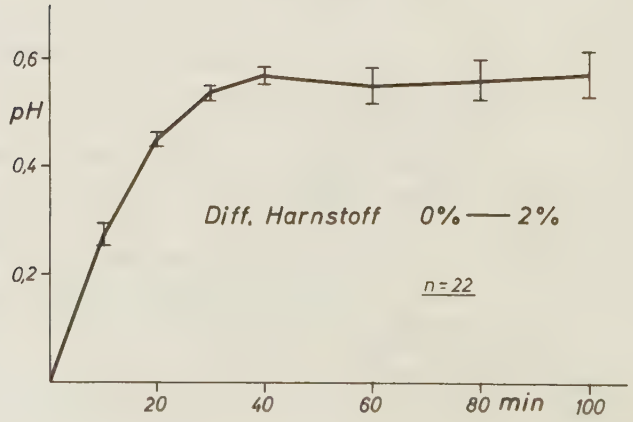

Abb. 5:

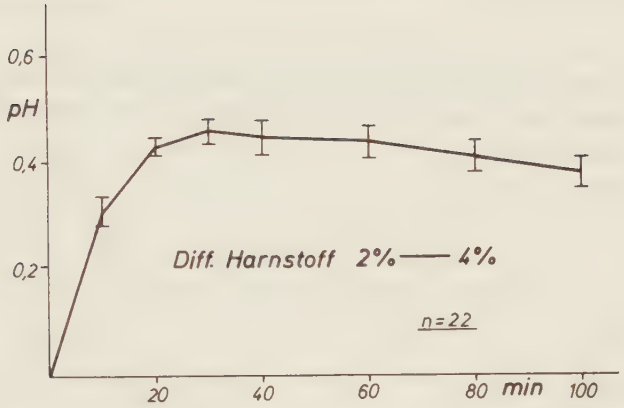

Abb. 6:

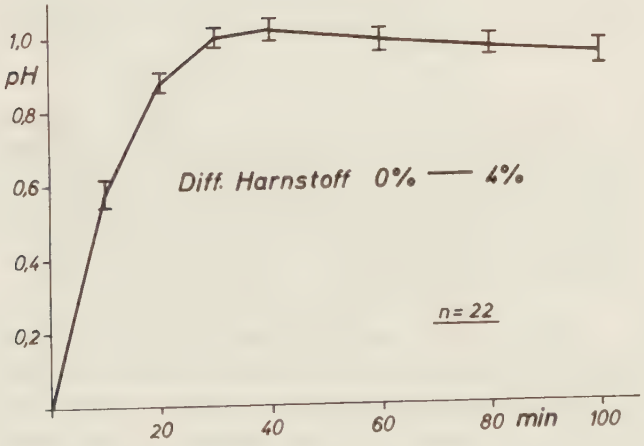

Abb. 7:

Abb. 5 - 7: Darstellung der mittleren pH-Differenzen mit ihren Standardabweichungen nach Substrateinwirkung von 5 Minuten.

2. Säurebildung und -elimination bei 20-minütiger Substratverweildauer

In Abbildung 8 sind die Mittelwertskurven des pH-Verlaufs bei 20-minütiger Substratverweildauer im "Mundhöhlensimulator" dargestellt.

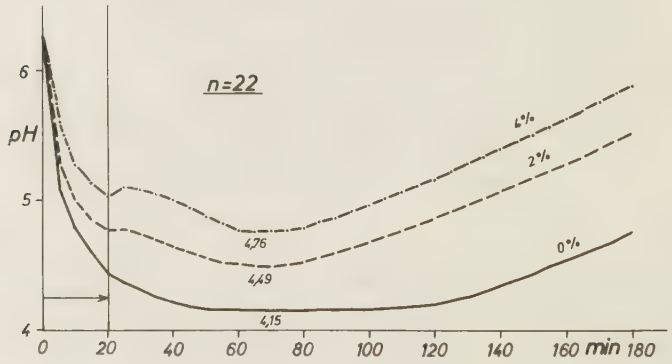

Abb. 8: Einfluß von Schokolade mit 0, 2 und 4 % Harnstoffbeimischungen auf das Plaque-pH. Clearance-Simulation durch Speichelentnahme im 5-Minutenrhythmus. Verweildauer der ersten, substratreichen Speichelprobe 20 Minuten. Mittelwertskurven aus 22 Einzelversuchen. Der Pfeil kennzeichnet die Dauer der Haupteinwirkungszeit des Substrates.

Analog zu Abbildung 4 gibt die untere Kurve den Verlauf mit Schokolade ohne Harnstoffzusatz als Kontrollsubstanz wieder. Die mittlere und die obere Kurve zeigen den Versuchsverlauf bei Verwendung von Schokolade mit einem Harnstoffanteil von 2 bzw. 4 %. Wie die Kurven erkennen lassen, ergibt sich auch hier wieder durch die Beimengung von Harnstoff zu Schokolade eine erheblich verringerte Wasserstoffionenkonzentration als im Kontrollversuch. Allerdings ist die Zeitspanne, in der in der Plaque ein sau-

rer pH-Wert gemessen wird, gegenüber Abbildung 4 wesentlich verlängert.
Auch in dieser Versuchsfolge verliefen die hier nicht wiedergegebenen Einzelkurven immer oberhalb der zugehörigen Kontrollkurven mit Schokolade ohne Harnstoffzusatz. In den nachfolgenden Tabellen (IV - VI) sind die einzelnen Mittelwerte für die jeweils verglichenen Paare dargestellt. Die Abbildungen 9 - 11 geben die pH-Differenzen dieser verglichenen Mittelwertskurven wieder. Auch hier erhielten wir ebenfalls hochsignifikante Ergebnisse.

Tab. IV

T	n	$\bar{X}_0$	$\bar{X}_2$	$\bar{d}$	sd	t	P
10	22	4,78	5,00	0,22	0,013	16,43	$\leqslant$ 0,001
20	22	4,44	4,76	0,32	0,023	13,98	$\leqslant$ 0,001
30	22	4,31	4,74	0,43	0,023	18,70	$\leqslant$ 0,001
40	22	4,22	4,63	0,41	0,019	22,65	$\leqslant$ 0,001
60	22	4,16	4,50	0,34	0,018	18,26	$\leqslant$ 0,001
80	22	4,15	4,52	0,37	0,025	14,64	$\leqslant$ 0,001
100	22	4,16	4,68	0,52	0,028	18,85	$\leqslant$ 0,001
120	22	4,20	4,87	0,67	0,030	21,66	$\leqslant$ 0,001
140	22	4,35	5,06	0,71	0,037	19,51	$\leqslant$ 0,001
160	22	4,35	5,26	0,73	0,040	18,12	$\leqslant$ 0,001
180	22	4,73	5,50	0,77	0,042	18,10	$\leqslant$ 0,001

Tab. V

T	n	$\bar{X}_2$	$\bar{X}_4$	$\bar{d}$	sd	t	P
10	22	5,00	5,27	0,27	0,014	19,07	$\ll$ 0,001
20	22	4,76	5,02	0,26	0,012	21,84	$\ll$ 0,001
30	22	4,74	5,08	0,34	0,016	21,38	$\ll$ 0,001
40	22	4,63	5,00	0,37	0,019	19,32	$\ll$ 0,001
60	22	4,50	4,79	0,29	0,022	13,08	$\ll$ 0,001
80	22	4,52	4,79	0,27	0,023	11,85	$\ll$ 0,001
100	22	4,68	4,79	0,29	0,026	10,54	$\ll$ 0,001
120	22	4,87	5,17	0,30	0,027	11,69	$\ll$ 0,001
140	22	5,06	5,39	0,33	0,026	12,74	$\ll$ 0,001
160	22	5,26	5,62	0,36	0,030	12,06	$\ll$ 0,001
180	22	5,50	5,87	0,37	0,029	12,26	$\ll$ 0,001

Tab. VI

T	n	$\bar{X}_2$	$\bar{X}_4$	$\bar{d}$	st	t	P
10	22	4,78	5,27	0,49	0,022	22,52	$\ll$ 0,001
20	22	4,44	5,02	0,58	0,025	23,55	$\ll$ 0,001
30	22	4,31	5,08	0,77	0,022	34,35	$\ll$ 0,001
40	22	4,22	5,00	0,78	0,017	45,96	$\ll$ 0,001
60	22	4,16	4,79	0,63	0,019	33,21	$\ll$ 0,001
80	22	4,15	4,79	0,64	0,022	28,75	$\ll$ 0,001
100	22	4,16	4,97	0,81	0,029	27,99	$\ll$ 0,001
120	22	4,20	5,17	0,97	0,032	29,93	$\ll$ 0,001
140	22	4,35	5,39	1,04	0,036	29,24	$\ll$ 0,001
160	22	4,53	5,62	1,09	0,044	24,99	$\ll$ 0,001
180	22	4,73	5,87	1,14	0,045	25,13	$\ll$ 0,001

Tab. IV - VI: Statistische Werte der Paarvergleiche bei Substrateinwirkung von 20 Minuten
T = Zeitpunkt der pH-Messung, n = Anzahl der Einzelversuche, $\bar{X}_0$, $\bar{X}_2$, $\bar{X}_4$ = pH-Mittelwerte am Meßpunkt T der Substrate Schokolade ($\bar{X}_0$), Schokolade mit 2 % Harnstoff ($\bar{X}_2$), Schokolade mit 4 % Harnstoff ($\bar{X}_4$); $\bar{d}$ = Mittelwerte der pH-Differenzen, sd = Standardabweichung der Mittelwerte, P = Irrtumswahrscheinlichkeit

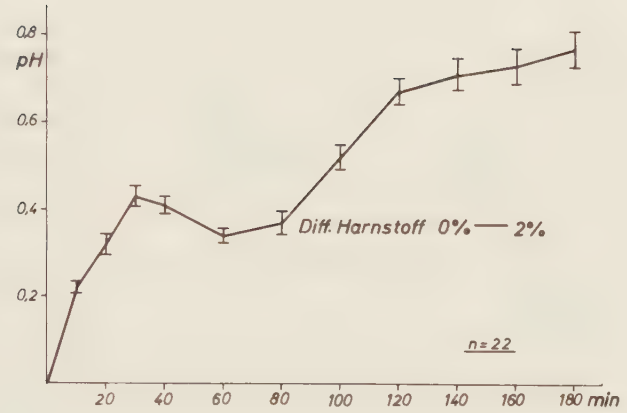
0,8
pH
0,6
0,4
0,2
Diff. Harnstoff 0% — 2%
n=22
20
40
60
80
100
120
140
160
180 min

Abb. 9:

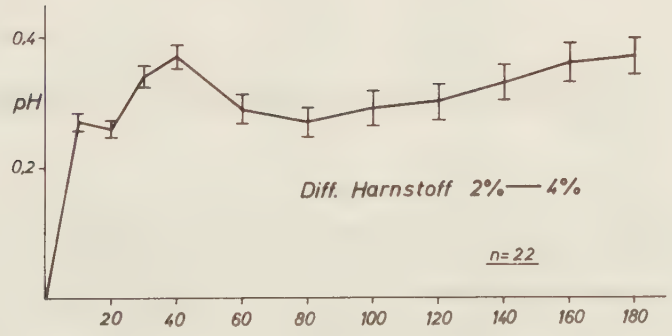
0,4
pH
0,2
Diff. Harnstoff 2% — 4%
n=22
20
40
60
80
100
120
140
160
180

Abb. 10:

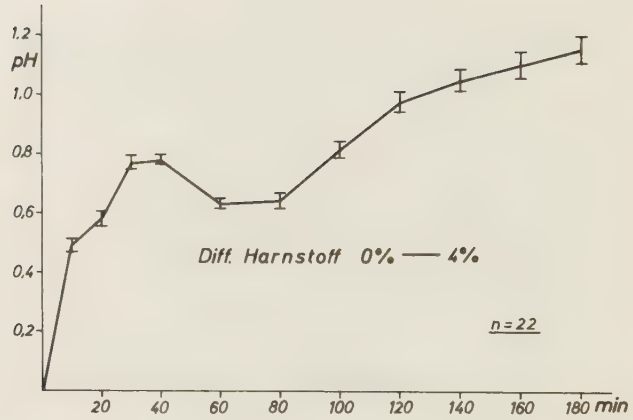

Abb. 11:

Abb. 9 - 11: Darstellung der mittleren pH-Differenzen mit ihren Standardabweichungen nach Substrateinwirkung von 20 Minuten.

3. Die geschmackliche Beurteilung harnstoffhaltiger Schokolade

In einer ergänzenden Untersuchung ließen wir wie bereits erwähnt, zwei Probandengruppen die geschmacklichen Eigenschaften harnstoffhaltiger Schokolade testen.
Die Säulendiagramme in Abbildung 12 und 13 geben die Ergebnisse der Beurteilung durch die Studenten und die Schüler wieder.

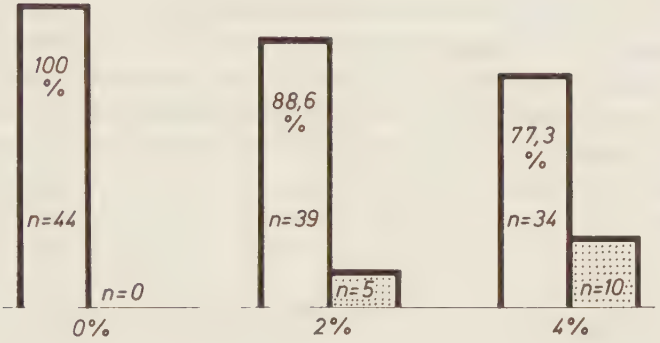

Abb. 12:

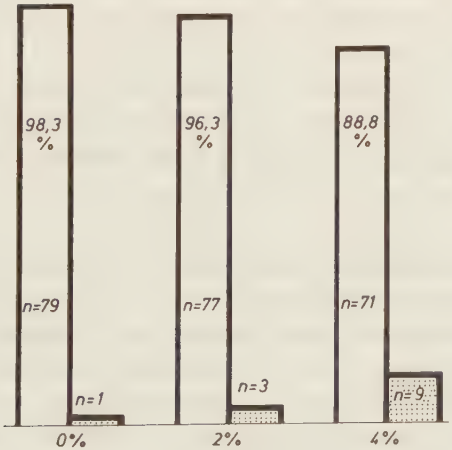

Abb. 13:

Abb. 12 u. 13: Ergebnisse der Beurteilung des Geschmacks harnstoffhaltiger Schokolade durch Studenten (Abb. 12) und Grundschüler (Abb. 13). Jeweils linke Säule - gute Beurteilung, rechte Säule - schlechte Beurteilung

Während bei der Beurteilung durch die Studenten (Abb. 12) alle Schokoladenproben ohne Harnstoffzusatz in geschmacklicher Hinsicht gut beurteilt wurden, fanden 11,4 % der 2 %- und 22,7 % der 4 %-harnstoffenthaltenden Schokolade eine schlechtere Beurteilung.
Günstigere Ergebnisse erhielten wir bei den Geschmackstests mit den Schulkindern. Hier beurteilten nur 3,75 % die 2 %- und 11,25 % die 4 %-harnstoffenthaltende Schokolade schlecht (Abb. 13).

III. Diskussion

Die Untersuchungsergebnisse bestätigen die Aussagen verschiedener Autoren, daß Harnstoff in Zahnplaques dem pH-senkenden Effekt von Saccharose entgegenwirkt. Bei den von uns verwendeten Zusätzen von 2- und 4 % war dieser Effekt bei allen 88 pH-Einzelkurven gegenüber der Kontrollkurve sichtbar.
Die Signifikanzen der Mittelwertsdifferenzen sind daher sehr hoch. Hochsignifikante Unterschiede ergaben sich auch zwischen 2- und 4 %igen Harnstoffzusätzen, zugunsten einer stärkeren Wirkung des 4 %igen Zusatzes.

Der Harnstoffzusatz äußert sich in einer Verminderung des pH-Abfalls und einem schnelleren Wiedererreichen des Ausgangswertes. Bei 5-minütiger Substrateinwirkung und 4 % Harnstoff ist der maximale pH-Abfall um durchschnittlich etwa einen pH-Wert geringer, als bei Schokolade ohne Harnstoff, d.h. die Wasserstoffionenkonzentration erreicht nur etwa 1/10! 2 % Harnstoff vermindern den pH-Abfall um rund 0,5 pH, entsprechend einer Wasserstoffionenkonzentration von etwa 1/3.
Substrateinwirkungszeiten von 20 Minuten bedingen interessante Änderungen des Kurvenverlaufs. Sowohl der 4- als auch der 2 %ige Zusatz ergeben nach 20 Minuten

einen kurzen pH-Anstieg, dem aber ein pH-Abfall folgt. Die Wirkung des Harnstoffs ist infolge dieses zweiten pH-Abfalls, der lange anhält, merkbar geringer als bei der Substrateinwirkung von 5 Minuten Dauer. Eine Erklärung geben die Untersuchungen KLEINBERGS (1963), wonach die Harnstoffspaltung wesentlich schneller als die Glykolyse in der Plaque abläuft. Da in den beiden Versuchsgruppen die Clearance gleichartig vorgenommen wurde, muß das tiefere und längere Absinken des pH in der sich erschöpfenden, neutralisierenden Wirkung der niedrigen Harnstoffmengen während der verlängerten Einwirkungszeit des Primärsubstrates gesehen werden. Ebenso muß in Betracht gezogen werden, daß in dieser Versuchsphase der Plaque ein überreiches Angebot an glukosehaltigem Substrat vorlag, so daß durch bestimmte Bakteriengruppen des Plaquematerials die Bildung extra- und intrazellulärer Polysaccharide erfolgen konnte. Die teilweise Spaltung dieser Zucker und die damit verbundene Säureentstehung während der Clearance erklärt darüber hinaus den über einen großen Zeitraum erniedrigten pH-Wert.
In der Mundhöhle dürften beim Genuß von Schokolade vermutlich oft die Verhältnisse des Versuchs mit 20 Minuten Einwirkungszeit vorkommen, da häufig im zeitlichen Abstand mehrere Täfelchen Schokolade verzehrt werden und da die Schokolade an den Retentionsstellen des Gebisses meist länger haftet. Es bleibt die Frage offen, inwieweit eine weitere Verlängerung der Substratzufuhr die Harnstoffwirkung beeinflußt.
Insgesamt gesehen ist auf Grund der Untersuchungsergebnisse von Harnstoffzusätzen im Bereich von 2 - 4 % eine wesentliche Verminderung der kariogenen Eigenschaften zu erwarten, besonders bei einem Harnstoffzusatz von 4 %.

In einem anderen Aspekt der Arbeit untersuchten wir geschmackliche Auswirkungen von Harnstoffzugaben in Schokoladen.

Die Ergebnisse zeigen, daß der Geschmack überwiegend positiv beurteilt wird. Die von Kindern abgegebenen Beurteilungen waren dabei günstiger als die der Studenten. Wir glauben deshalb, daß Einwendungen gegen den Harnstoff unter geschmacklichen Gesichtspunkten kaum geltend gemacht werden sollten, zumal sich durch Änderung der Rezeptur und verfeinerte technologische Zubereitungsverfahren hier zweifellos noch Verbesserungen erzielen lassen. Toxikologisch sei erwähnt, daß eine Tafel Schokolade von 100 g mit einem Zusatz von 2 - 4 % Harnstoff etwa 5 - 20 % der Harnstoffmenge enthält, die bei normaler Ernährung pro Tag durch den Harn ausgeschieden wird.

C. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, in welchem Ausmaß Zusätze von Harnstoff die pH-senkende Wirkung saccharosehaltiger Schokolade in menschlichen Zahnplaques zu beeinflussen vermögen.
Wir führten die Versuche mit Hilfe einer von H.F.M. SCHMIDT angegebenen Versuchsapparatur (Mundhöhlensimulator) in vitro an Zahnplaques von 4 verschiedenen Personen durch. Es wurde der pH-Kurvenverlauf nach 5- und 20-minütiger Einwirkung eines Schokoladen-Speichelgemisches gemessen. Die Nachwirkung der im Mund zurückbleibenden Schokolade fand bei der Versuchsanordnung Berücksichtigung. Der Harnstoffzusatz der verwendeten Schokolade betrug 0, 2 und 4 %. Die Testschokolade wurde außerdem von 22 Studenten und 80 Grundschülern geschmacklich mit der selben Schokolade ohne Harnstoffzusätze verglichen.

Es zeigte sich, daß sowohl 4 als auch 2 %ige Harnstoffbeimengungen den durch den Saccharosegehalt der Schokolade bedingten pH-Abfall deutlich verminderten. Der Zusatz von 4 % ergab die stärkere Wirkung. Bei längerer Einwirkungszeit war der Harnstoffzusatz weniger wirksam als bei kürzerer Einwirkungszeit. Die Ergebnisse wurden mit dem t-Test statistisch überprüft und erwiesen sich als hochsignifikant.

Geschmacklich ergab der 2 %ige Harnstoffzusatz eine geringfügige, der 4 %ige eine deutlichere Geschmacksbeeinträchtigung. Eine Geschmackskorrektur durch Änderung der Rezeptur und Zubereitung erscheint möglich.

D. Literatur

Albrechtsen, S.R.
Thaysen, J.H.
The Excretion of urea by the human parotid gland.
Scand. J. clin. Invest. 7, 231 (1955)

Balli, N.
Untersuchungen über den Einfluß von Harnstoff und Perhydrit auf die Entstehung von Zahnkaries bei weißen Ratten.
Med. Diss. Marburg, 1974

Baumgart, J.
In-vitro Untersuchungen über den Einfluß von Perhydrit, Harnstoff und Chlorhexidin-Diazetat auf das Dickenwachstum menschlicher Zahnplaques.
Med. Diss. Marburg, 1974

Bramstedt, F.
Neuere Untersuchungen über die Bedeutung der Kohlenhydrate in der Kariesätiologie.
Dtsch. zahnärztl. Z. 20, 505 (1965)

Bramstedt, F.
Zusammenfassung und Schlußfolgerung.
Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 1188 (1971)

Cary, J.E.
The development of alkali within saliva and its relation to dental caries.
Aust. dent. J. 50, 4 (1946)

Chernauzek, D.S.
Mitchell, D.F.
Ammoniated dentrifices and hamster caries. The effect of ingestion.
Science 112, 273 (1950)

Cremer, H.D.
Ernährungsphysiologische Aspekte zum Konsum von Zucker und Zuckeraustauschstoffen.
Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 1041 (1971)

Davies, S.N.
King, R.M.
Effectivness of an ammonium ion tooth powder in the control of dental caries.
J. dent. Res. 30, 645 (1951)

Deutsche Gesellschaft für Ernährung
Ernährungsbericht 1969, S. 117, Tab. 70

Frostell, G.
Studies on the urease activity and the glycolytic activity of oral micrococci.
Acta odent. Scand. 17, 167 (1959)

Frostell, G.
Studies on the ammonia production und the ureolytic activity of dental plaque material.
Acta odont. Scand. 18, 29 (1960)

Frostell, G.
Plaque metabolism and substrate concentration.
Acta odont. Scand. 20, 335 (1962)

Frostell, G.
The ureolytic activity of dental calculus.
Acta odont. Scand. 20, 411 (1962)

Frostell, G.
Substitution of fermentable sugars in sweets. in: Blix, G.: Nutrition and caries-prevention.
Almqvist and Wiksells, Uppsala 1965, S. 60

Frostell, G.
The caries reducing effect of carbamide in hamsters and rats.
Svensk tandläk.-T. 63, 475 (1970)

Frostell, G.
Erickson, I.
A possible caries prevention through the addition of carbamide to fermentable carbohydrates
Svensk. tandläk.-T. 55, 223 (1963)

Gering, F.
Über die Entwicklung von Dextranase auf extrazellulär gebildete Streptokokken-Polysaccharide.
Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 483 (1971)

Graefe, G. — Technologische Probleme beim Austausch von Zuckerarten durch Zuckeraustauschstoffe in Lebensmitteln. Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 1086 (1971)

Graf, H. — Telemetrie des pH der Interdentalplaque. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 79, 146 (1969)

Graf, H. Mühlemann, H.R. — Telemetry of plaque pH from interdental area. Helv. odont. Acta 10, 94 (1966)

Grove, C.T. Grove, D.J. — The biological aspect of dental caries. Dent. Cosmos 76, 1029 (1934)

Grove, C.J. Grove, C.T. — Chemical study of human saliva indicating that ammonia is an immunizing factor in dental caries. J. Amer. dent. Ass. 22, 247 (1935)

Gustafsson, B.E. — The effect of different levels of Carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. Acta odont. Scand. 11, 195 (1954)

Gutherz, M. — Sozialmedizinische Aspekte der Trinkwasserfluoridierung Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 77, 492 (1967)

Hassel, Th.M. — pH-Telemetrie der interdentalen Plaque nach Genuß von Zucker und Zuckeraustauschstoffen. Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 1145 (1971)

Hawes, R.R. Bibby, B.G. — Evaluation of a dentrifice containing carbamide and urease. J. Amer. dent. Ass. 46, 280 (1953)

Henschel, C.J. — Caries control by chemical prophylaxis. N. Y. St. dent. J. 16, 102 (1946)

Henschel, C.J. Lieber, L. — Caries incidence reduction by unsupervised use of 27.5 percent ammonium therapy dentrifice. J. dent. Res. 28, 248 (1949)

Henschel, C.J. Lieber, L. — High urea ammoniated dentrifice: caries reduction through four years home care. Oral Surg. 5, 155 (1952)

Hine, M.K. O'Donnell, J.F. — Incidence of urease producing bacteria in saliva J. dent. Res. 22, 103 (1943)

Hirzel, H.C. — Zur Telemetrie des pH im Interdentalraum. Med. Diss. Zürich, 1969

Jenkins, G.N. Wright, D.E. — The role of salivary ammonia in dental caries. Part I. Brit. dent. J. 89, 364 (1950)

Jenkins, G.N. Wright, D.E. — The role of ammonia in dental caries. Part II. The effect of ammonia and urea on salivary organism. Brit. dent. J. 90, 117 (1951)

Jenkins, G.N. Kleinberg, I. — Studies in the pH of plaque in interproximal areas after eating sweets and starchy foods. J. dent. Res. 35, 964 (1956)

Jenkins, G.N. — The refinement of food and dental caries. Adv. Oral Biol. 2, 67 (1966)

Jenkins, G.N. — The Physiology of the Mouth, Blackwell, Oxford, 1966

Jordan, H.V.
Keyes, P.H.
In vitro methods for the study of plaque formation and carious lesions. Arch. oral Biol. 11, 793 (1966)

Karle, E.
Büttner, W.
Kariesbefall im Tierversuch nach Verabreichung von Sorbit, Xylit, Lycasin und Calciumsaccharosephosphat. Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 1097 (1971)

Kesel, R.G.
The effectiveness of dentrifices, mouthwashes and ammonia-urea compounds in the control of dental caries. J. dent. Res. 27, 244 (1948)

Kesel, R.G.
O'Donnell, J.F.
Kirch, E.R.
Wach, E.C.
Ammonia production in the oral cavity and the use of ammonium salts for the control of dental caries. Amer. J. Orthodont. 33, 80 (1947)

Kesel, R.G.
O'Donnell, J.F.
Kirch, E.R.
Wach, E.C.
The biological production and therapeutic use of ammonia in the oral cavity in relation to dental caries prevention
J. Amer. dent. Ass. 33, 695 (1947)

Kesel, R.G.
Kirch, E.R.
O'Donnell, J.F.
Wach, E.C.
Recent developments in the biologic production of ammonia and the use of ammonia and carbamide in caries prevention.
Oral Surg. 2, 459 (1949)

Keyes, P.H.
Dental caries in the Syrian hamster. III. The effect of topical NaF and urea applications on caries activity. J. dent. Res. 25, 469 (1946)

Keyes, P.H.
Recent advances in dental caries research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. Int. dent. J. 12, 443 (1962)

King, J.D.
Urea dentrifices and gingivitis. Brit. dent. J. 90, 107 (1951)

Kleinberg, I. Effect of urea concentrations on human plaque pH levels in situ. Arch. oral Biol. 9, 493 (1967)

Kleinberg, I. Biochemistry of the dental plaque. Advances oral Biol. 4, 43 (1970)

Kleinberg, I. Silverman, G. Further studies on the metabolism of the oral microorganisms in saliva-substrate mixtures in vitro. J. Canad. dent. Ass. 29, 25 (1963)

König, K.G. Mühlemann, H.R. The cariogenity of refined and unrefined sugar in animal experiments. Arch. oral Biol. 12, 1297 (1967)

König, K.G. Kariesprophylaxe gestern, heute, morgen Öst. Z. Stomat. 68, 382 (1971)

König, K.G. Karies und Kariesprophylaxe München, 1971

Ludwick, W.E. Fosdick, L.S. The ammonia content of the mouth. J. dent. Res. 29, 38 (1950)

Lundqvist, C. Oral sugar clearance: its influence on dental caries activity. Odont. Revy 3 (1952) Suppl. 1

Mäkinen, K.K. The role of sucrose and other sugars in the development of dental caries: a review. Int. dent. J. 22, 363 (1972)

Maizena Industrieprodukte GmbH Sorbo und Sorbo-Kristall in der Diätetik. Techn. Informationsdienst QB/23, Hamburg 1968

Marshall Day, C.D. Oral conditions in the famine ditrict of Hissar. J. Amer. dent. Ass. 31, 52 (1944)

Marthaler, T.M. Epidemiological and clinical dental findings in relation to intake of carbohydrates. Caries Res. 1, 222 (1967)

Marthaler, T.M. Froesch, E.R. Ist Weißbrot kariogen? Zahnstatus von Individuen mit hereditärer Fruktose-Intoleranz. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 77, 630 (1967)

Miller, W.D. Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig, 1889

Mitchell, D.F. Helman, E.Z. Chermauzek, D.S. Ammoniated dentrifices and hamster caries: Further studies on the effects of ingestion. Science 116, 573 (1952)

Mühlemann, H.R. Zuckerfreie, zahnschonende und nicht kariogene Bonbons und Süßigkeiten. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 79, 117 (1969)

Neff, D. Acid production from different carbohydrate sources in human plaque in situ. Caries Res. 1, 78 (1967)

Newbrun, E. Sugar, sugar substitutes and non-caloric agents. Int. dent. J. 23, 328 (1973)

Nordsieck, F.W. "The sweet tooth" Amer. Scientist 60, 41 (1972)

Ranke, E. Ahrens, G. Ranke, B. Beobachtungen zur Bedeutung von Süßigkeitenverzehr und Zahnpflege für die Zahnkaries. Dtsch. zahnärztl. Z. 29, 798 (1974)

Regolati, B. Ammonia and urea in oral pathology: a literature review. Helv. odont. Acta 15, (1971) Suppl. VII

Roos, A.
Die Kriegsernährung in ihrer Bedeutung für die Entwicklung der Zahnkaries in der Schweiz.
Zürich, 1950

Russel, A.L.
International nutrition surveys: a summary of preliminary dental findings.
J. dent. Res. 42, 233 (1963)

Schmidt, H.F.M.
Messungen des pH-Wertes an der Innenfläche von Zahnplaques in einem Mundhöhlensimulator.
Stoma 23, 241 (1970)

Schmidt, H.F.M.
Untersuchungen über die Beeinflussung des pH-Wertes von Zahnplaques durch wasserstoffperoxidhaltige Lösungen.
Dtsch. zahnärztl. Z. 27, 490 (1972)

Schmidt, H.F.M.
Untersuchungen zum Säure-Base-Stoffwechsel an der Basisfläche menschlicher Zahnplaques unter Einfluß von Saccharose und Harnstoff.
Dtsch. zahnärztl. Z. 27, 679 (1972)

Schmidt, H.F.M.
Experimente und Überlegungen zu verschiedenen Möglichkeiten der Kariesprophylaxe.
Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 62, 225 (1974)

Schmidt, H.F.M.
Balli, N.
Stötzel, W.
Addition of urea to cariogenic diet or drinking water: Effect on caries experience in albino rats.
Intern. Ass. dent. Res., contin. Europ. Divis., 12th annual meeting 1976

Schmidt, H.J.
Prophylaktische und therapeutische Möglichkeiten durch Ammonium-, Lithium- und Harnstoffverbindungen.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 62, 439 (1952)

Stephan, R.M. Two factors of possible importance in relation to the etiology and treatment of dental caries and other dental diseases. Science, 92, 578 (1940)

Stephan, R.M. Changes in the hydrogen ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions. J. Amer. dent. Ass. 27, 718 (1940)

Stephan, R.M. The effect of urea in counteracting the influence of carbohydrate on the pH of dental plaques. J. dent. Res. 22, 63 (1943)

Stephan, R.M. Miller, B.F. A quantitative method for modify production of acids in bacterial plaques on human teeth. J. dent. Res. 22, 45 (1943)

Stephan, R.M. Hemmens, E.S. Studies of changes in pH produced by pure cultures of oral microorganisms. J. dent. Res. 26, 15 (1947)

Stralfors, A. Investigations into the bacterial chemistry of dental plaque. Odont. T. 58, 155 (1950)

Toverud, G. The influence of war and post-war conditions on the teeth of Norwegian school children. III. Discussion of food supply and dental condition in Norway and other European countries. Milbank Memorial Fund Quarterly 35, 373 (1957)

Herrn Professor Dr. H.F.M. Schmidt danke ich für die Überlassung des Themas und die Förderung meiner Arbeit durch freundliche Unterstützung und wertvolle Ratschläge.

Herrn Professor Dr. G. Ahrens danke ich für die Übernahme des Correferates.

Ferner gilt mein besonderer Dank Fräulein Völkner und Herrn Kissel aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Philipps-Universität Marburg an der Lahn, die mir bei der Durchführung der Laborversuche behilflich waren.

Lebenslauf

Ich, Rainer Holstein, bin am 4. Dezember 1946 als Sohn des Bundesbahnbeamten Hans Holstein und seiner Ehefrau Katharina, geb. Ullrich in Bebra geboren.

Nach den Grundschuljahren von 1953 bis 1957 in Bebra besuchte ich bis 1966 die Alte Klosterschule, Gymnasium für Jungen, in Bad Hersfeld, wo ich auch das Abitur bestand.
Von 1966 bis 1971 studierte ich an der Philipps-Universität Marburg Zahnheilkunde. Nach dem Examen war ich zunächst von 1971 bis 1974 wissenschaftlicher Angestellter in der Marburger Zahnklinik, danach für ein Jahr an der Medizinischen Hochschule Hannover.
Nach zweijähriger Tätigkeit als Assistent in einer Marburger Privatpraxis arbeite ich ab Oktober 1977 als niedergelassener Zahnarzt in einer Gemeinschaftspraxis in Bebra.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten:

Ammon, Bommer, Brück, Dimroth, Golenhofen, Haan, Havemann, Henis, Hensel, Hering, Heuser, Hort, Hupe, Janke, Kaffarnik, Karlson, Koch, Koransky, Korb, Kühnel, Lübbers, Mahr, Mann, Niemeyer, Oehmig, Pantke, Petry, Pfütz, Riecken, Rohen, Rosemann, Salfeld, Seidel, Schiff, Schmid, Schmidt, Siegert, Vogt, v. Stosch, Walcher, Zilliken.